

# ACIDES POLYGLUTAMIQUES FONCTIONNALISES PAR DES GROUPES CATIONIQUES ET DES GROUPEMENTS HYDROPHOBES ET LEURS APPLICATIONS, NOTAMMENT THERAPEUTIQUES

**Publication number:** FR2915748 (A1)

**Publication date:** 2008-11-07

**Inventor(s):** CHAN YOU PING; BREYNE OLIVIER; BONNET GONNET CECILE

**Applicant(s):** FLAMEL TECHNOLOGIES SA [FR]

**Classification:**

**- international:** C08G69/10; A01N25/10; A01P3/00; A01P7/04; A01P13/00; A23L1/30; A61K8/88; A61K38/28; A61K47/42; C08G69/48; C08G69/00; A01N25/10; A01P3/00; A01P7/04; A01P13/00; A23L1/30; A61K8/72; A61K38/28; A61K47/42

**- European:** C08G69/10; A61K47/34; A61K47/48R2T; C08G69/48

**Application number:** FR20070003185 20070503

**Priority number(s):** FR20070003185 20070503

**Also published as:**

US2009012028 (A1)

WO2008135563 (A1)

**Cited documents:**

WO2007051923 (A2)

FR2840614 (A1)

FR2843117 (A1)

## Abstract of FR 2915748 (A1)

La présente invention concerne des nouveaux matériaux à base de polyaminoacides modifiés, biodégradables, utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s) (PA). L'invention vise aussi de nouvelles compositions pharmaceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytosanitaires à base de ces polyaminoacides. Le but de l'invention est de fournir une nouvelle matière première polymère, susceptible d'être utilisée pour la vectorisation de PA et permettant de satisfaire de manière optimale à toutes les spécifications requises en l'espèce : biocompatibilité, biodégradabilité, aptitude à s'associer facilement avec de nombreux principes actifs ou à les solubiliser, et à libérer ces principes actifs in vivo. Ce but est atteint par la présente invention qui concerne des nouveaux polyglutamates modifiés par des groupes cationiques qui, s'ils sont déprotonables, présentent un pKa supérieur ou égal à 7, et par des groupements hydrophobes comportant de 8 à 30 atomes de carbone. Ces polyglutamates modifiés par des groupes cationiques sont aptes à se transformer aisément et économiquement en particules de vectorisation de principes actifs, ces particules étant elles-mêmes propres à former des suspensions colloïdales aqueuses stables. Ces polyglutamates modifiés présentent l'avantage d'être moins visqueux que d'autres polymères analogues, tout en conservant une capacité à associer des protéines telles que l'insuline. Certains sont solubles dans l'eau à pH acide et deviennent insoluble à pH physiologique (7,4) et devraient donc, lors d'une injection sous-cutanée, précipiter sur le site d'injection.

Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

**2 915 748**

②1 N° d'enregistrement national : **07 03185**

⑤1 Int Cl<sup>B</sup> : C 08 G 69/10 (2006.01), C 08 G 69/48, A 61 K 8/88,  
47/42, 38/28, A 01 N 25/10, A 01 P 13/00, 7/04, 3/00, A 23 L 1/  
30

⑫

**DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1**

②2 Date de dépôt : 03.05.07.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 07.11.08 Bulletin 08/45.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : FLAMEL TECHNOLOGIES Société  
anonyme — FR.

⑦2 Inventeur(s) : CHAN YOU PING, BREYNE OLIVIER  
et BONNET GONNET CECILE.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : CABINET PLASSERAUD.

⑤4 ACIDES POLYGLUTAMIQUES FONCTIONNALISÉS PAR DES GROUPES CATIONIQUES ET DES  
GROUPEMENTS HYDROPHOBES ET LEURS APPLICATIONS, NOTAMMENT THERAPEUTIQUES.

⑤7 La présente invention concerne des nouveaux maté-  
riaux à base de polyaminoacides modifiés, biodégradables,  
utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s)  
(PA). L'invention vise aussi de nouvelles compositions phar-  
maceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytosanitaires à  
base de ces polyaminoacides.

Le but de l'invention est de fournir une nouvelle matière  
première polymère, susceptible d'être utilisée pour la vecto-  
risation de PA et permettant de satisfaire de manière opti-  
male à toutes les spécifications requises en l'espèce:  
biocompatibilité, biodégradabilité, aptitude à s'associer faci-  
lement avec de nombreux principes actifs ou à les solubili-  
ser, et à libérer ces principes actifs in vivo. Ce but est atteint  
par la présente invention qui concerne des nouveaux poly-  
glutamates modifiés par des groupes cationiques qui, s'ils  
sont déprotonables, présentent un pKa supérieur ou égal à  
7, et par des groupements hydrophobes comportant de 8 à  
30 atomes de carbone.

Ces polyglutamates modifiés par des groupes cationi-  
ques sont aptes à se transformer aisément et économique-  
ment en particules de vectorisation de principes actifs, ces  
particules étant elles-mêmes propres à former des suspen-  
sions colloïdales aqueuses stables. Ces polyglutamates

modifiés présentent l'avantage d'être moins visqueux que  
d'autres polymères analogues, tout en conservant une ca-  
pacité à associer des protéines telles que l'insuline. Cer-  
tains sont solubles dans l'eau à pH acide et deviennent  
insoluble à pH physiologique (7,4) et devraient donc, lors  
d'une injection sous-cutanée, précipiter sur le site d'injec-  
tion.

FR 2 915 748 - A1



**ACIDES POLYGLUTAMIQUES FONCTIONNALISES PAR DES GROUPES  
CATIONIQUES ET DES GROUPEMENTS HYDROPHOBES ET LEURS  
APPLICATIONS, NOTAMMENT THERAPEUTIQUES**

- 5 La présente invention concerne des nouveaux matériaux biodégradables à base de copolyaminoacides, utiles notamment pour la vectorisation de principe(s) actif(s) (PA). L'invention vise aussi de nouvelles compositions pharmaceutiques, cosmétiques, diététiques ou phytosanitaires à base de ces polyaminoacides modifiés. Ces compositions peuvent être du type de celles permettant la vectorisation de PA et se présentant, de
- 10 préférence, sous forme d'émulsions, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, de gels, d'implants ou de films.
- Les PA considérés sont, avantageusement, des composés biologiquement actifs et qui peuvent être administrés à un organisme animal ou humain par voie orale, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique,
- 15 intrapéritonéale, intracérébrale, buccale, etc.
- Les PA plus particulièrement, mais non limitativement, concernés par l'invention sont des protéines, des glycoprotéines, des peptides, des polysaccharides, des lipopolysaccharides, des oligo ou des polynucléotides, et des molécules organiques. Mais il peut aussi s'agir de produits cosmétiques ou de produits phytosanitaires, tels que des herbicides, des
- 20 insecticides, des fongicides, etc.

Dans le domaine de la vectorisation des principes actifs notamment médicamenteux, il existe un besoin, dans beaucoup de cas :

- de les protéger contre la dégradation (hydrolyse, digestion enzymatique etc...),
  - et/ou de contrôler leur vitesse de libération afin de maintenir un niveau thérapeutique sur une durée définie,
  - et/ou de les véhiculer (en les protégeant) au site d'action.
- 25
- 30 A ces fins, plusieurs types de polymères ont été étudiés et certains sont même disponibles commercialement. On peut citer, par exemple, les polymères du type polylactique, polylactique-glycolique, polyoxyéthylène-oxypopylène, polyaminoacide ou encore polysaccharide. Ces polymères constituent des matières premières permettant de fabriquer, par exemple, des implants massiques, des microparticules, des nanoparticules, des
- 35 vésicules, des micelles ou des gels. Outre le fait que ces polymères doivent être adaptés à la fabrication de tels systèmes, ils doivent également être biocompatibles, non-toxiques, non-immunogènes, économiques et ils doivent pouvoir être facilement éliminés du corps

et/ou être biodégradables. Sur ce dernier aspect, il est de surcroît essentiel que la biodégradation dans l'organisme génère des produits non-toxiques.

5 À titre d'illustration de l'art antérieur concernant des polymères employés comme matières premières pour la réalisation de systèmes de vectorisation de PA, divers brevets ou demandes de brevet ou articles scientifiques sont évoqués ci-après.

10 Le brevet US-B-4,652,441 décrit des microcapsules de polylactide encapsulant l'hormone LH-RH. Ces microcapsules sont produites en préparant une émulsion eau-dans-huile-dans-eau et comprennent une couche interne aqueuse contenant l'hormone, une substance (gélatine) fixant cette dernière, une couche huileuse de polylactide, ainsi qu'une couche externe aqueuse (alcool polyvinylique). La libération du PA peut se faire sur une période de plus de deux semaines après injection sous-cutanée.

15 Le brevet US-B-6,153,193 décrit des compositions à base de micelles de poly(oxyéthylène)-poly(oxypropylène) amphiphiles, pour la vectorisation d'anti-cancéreux tel que l'adriamycine.

20 Akiyoshi et al. (J. Controlled Release 1998, 54, 313-320) décrivent des pullulans qui sont rendus hydrophobes par greffage de cholestérol et qui forment des nanoparticules dans l'eau. Ces nanoparticules aptes à se complexer de manière réversible avec l'insuline, forment des suspensions colloïdales stables.

25 Le brevet US-B-4,351,337 décrit des copolyaminoacides amphiphiles, à base de leucine et de glutamate, utilisables sous forme d'implants ou de microparticules pour la libération contrôlée de principes actifs. La libération de ces derniers peut se faire sur une durée très longue dépendant de la vitesse de dégradation du polymère.

30 Le brevet US-B-4,888,398 décrit des polymères à base de polyglutamate ou polyaspartate, et éventuellement polyleucine, avec des groupements pendants de type alkyloxycarbonylméthyle, placés de façon aléatoire sur la chaîne polyaminoacide. Ces polyaminoacides, greffés par des groupements latéraux e.g. méthoxycarbonylméthyle, sont utilisables sous forme d'implants biodégradables contenant un PA à libération prolongée.

35 Le brevet US-B-5,904,936 décrit des nanoparticules obtenues à partir d'un polymère bloc polyleucine-polyglutamate, aptes à former des suspensions colloïdales stables et capables de s'associer spontanément avec des protéines biologiquement actives sans les dénaturer.

Ces dernières peuvent ensuite être libérées *in vivo* de manière contrôlée, sur une longue période.

5 Le brevet US-B-5,449,513 décrit des copolymères bloc amphiphiles comprenant un bloc polyoxyéthylène et un bloc polyaminoacide, par exemple poly(bétabenzyl-L-aspartate). Ces polymères polyoxyéthylène-polybenzylaspartate forment des micelles qui sont aptes à encapsuler des molécules actives hydrophobes telles que l'adryamicine ou l'indométhacine.

10 La demande de brevet WO-A-99/61512 décrit des polylysines et des polyornithines fonctionnalisées par un groupe hydrophobe (acide palmitique relié à la polylysine ou ornithine) et un groupe hydrophile (polyoxyéthylène). Ces polymères, par exemple la polylysine greffée avec des chaînes polyoxyéthylène et palmitoyl, forment, en présence de cholestérol, des vésicules capables d'encapsuler la doxorubicine ou l'ADN. Ces  
15 polymères à base de polylysines sont cationiques en milieu physiologique.

La demande de brevet EP-A-963 758 décrit des polyaminoacides fonctionnalisés par un groupe cationique. Ces polymères sont capables de former des complexes avec un acide nucléique et sont utilisables en thérapie génique. Les groupements cationiques sont des  
20 dérivés amines qui ne sont pas dérivés des acides aminés et les polyaminoacides ne comportent pas de groupements hydrophobes.

Yang et al. (Biotechnology Letters 2005, 27, 977-982) décrivent des polyaspartates fonctionnalisés par des groupements alkyles linéaires et des oligoarginines. Ces polymères  
25 forment des nanoparticules de 8 à 40 nm dans l'eau et sont capables d'être internalisés par des cellules. Il est suggéré que ces particules peuvent être utilisées pour la vectorisation de molécules hydrophobes.

Dans le même domaine, la demanderesse a décrit dans plusieurs demandes de brevets, des  
30 polymères à base de polyglutamate (anioniques) avec des concepts apparentés.

La demande WO-A-03/104303 décrit des polyaminoacides anioniques fonctionnalisés par de l'alpha-tocophérol.

35 La demande WO-A-2004/013206 décrit des polyaminoacides anioniques comportant des groupements hydrophobes et caractérisés en ce que ces groupements sont reliés au polymère par l'intermédiaire d'une rotule contenant deux fonctions amides, et plus précisément *via* un espaceur de type lysine ou ornithine.

La demande WO-A-2004/060968 décrit des polyaminoacides fonctionnalisés par au moins un groupement oligoaminoacide à base de leucine et/ou isoleucine et/ou valine et/ou phénylalanine.

- 5 L'article de W. C. Shen. Acid-sensitive dissociation between poly(lysine) and histamine-modified poly(glutamate) as a model for drug-releasing from carriers in endosomes. *Biochim Biophys Acta* 1034 (1):122-124, 1990, décrit un polyglutamate fonctionnalisé par 40% d'histamine. Cependant, aucun squelette polyglutamate hydrophobisé n'est décrit. De plus, le polymère développé précipite entre pH 4 et 5 et est soluble à pH physiologique.
- 10 Seule l'application visant à former des complexes avec un polylysine sensible au pH est développée. Ces complexes sont basés sur des interactions électrostatiques. En effet, à pH physiologique, le complexe polyglutamate-histamine-polylysine est formé alors qu'il se décompose à pH 4-5, valeur du pH dans l'endosome.
- 15 Ainsi, même si de très nombreuses solutions techniques sont développées et proposées dans l'art antérieur pour la vectorisation des principes actifs médicamenteux, la réponse à l'ensemble des exigences est difficile à obtenir et demeure perfectible. Plus spécifiquement, l'invention concerne des polyaminoacides biodégradables, transformables en nano- ou micro-particules colloïdales de vectorisation aptes à s'associer réversiblement
- 20 à des principes actifs.

Dans ce contexte, l'un des objectifs essentiels de la présente invention est de fournir de nouveaux copolyglutames amphiphiles comportant à la fois des charges positives à pH neutres ou proche de la neutralité et des groupements hydrophobes en chaîne pendant.

- 25 Ces polymères représentent un perfectionnement par rapport à ceux décrits dans les brevets ou demandes de brevets cités plus haut en termes de vectorisation d'un principe actif tel qu'un peptide ou une protéine thérapeutique, un ADN, un ARN ou une petite molécule.
- 30 Un autre objectif essentiel de la présente invention est que ces polymères soient aptes à être utilisés pour la vectorisation de principe actif PA et permettent de satisfaire de manière optimale à toutes les spécifications du cahier des charges, à savoir notamment :
  - capacité :
    - à former aisément et économiquement des suspensions colloïdales aqueuses
    - 35 stables,
    - à s'associer facilement avec de nombreux principes actifs,
    - et à libérer ces principes actifs *in vivo*,
  - biocompatibilité,

- biodégradabilité,
- stabilité à l'hydrolyse.

Cet objectif, parmi d'autres, est atteint par la présente invention qui concerne des polyaminoacides comprenant des unités glutamiques, caractérisés en ce que certaines des unités glutamiques sont chacune porteuses d'un groupe cationique pendant, qui, s'il est déprotonable, présente un pKa supérieur ou égal à 7, lesdits groupes cationiques étant identiques ou différents entre eux, et en ce que d'autres unités glutamiques sont chacune porteuses d'un groupement hydrophobe (GH) pendant, lesdits groupements hydrophobes (GH) étant identiques ou différents entre eux.

Dans la description qui suit, sauf précision contraire, le terme "groupe cationique" désignera d'une manière générale les groupes cationiques qui ne sont pas déprotonables, et les groupes cationiques qui sont déprotonables et qui présentent un pKa supérieur ou égal à 7.

Chaque polyglutamate selon l'invention est donc fonctionnalisé par une multiplicité de groupes cationiques et de groupements hydrophobes (GH), pendants et respectivement identiques ou différents entre eux.

20

Au sens de l'invention, le terme "multiplicité" signifie que le polyglutamate est fonctionnalisé par :

- \* au moins 1 % de groupes cationiques (% molaire par rapport aux acides glutamiques) et jusqu'à 99 %,
- \* en moyenne, au moins deux groupements hydrophobes (GH) pendants par molécule. Il est possible conformément à l'invention que le polyacide glutamique présente, en plus des groupements hydrophobes (GH) pendants, des groupements hydrophobes (GH) fixés sur au moins l'une des extrémités des chaînes de copolymère.

30 Au sens de l'invention, l'expression « être porteur » signifie que le groupement porté est pendant, c'est-à-dire que ledit groupement est un groupement latéral par rapport aux unités glutamiques et est un substituant de la fonction carbonyle en  $\gamma$  de l'unité glutamique qui le porte.

Le polyglutamate est également porteur de groupes cationiques. Ces groupes sont, de préférence, greffés aux unités glutamiques par l'intermédiaire d'une liaison amide ou ester.

35

Selon une variante de l'invention, encore d'autres unités glutamiques peuvent chacune être porteuses d'un groupement non ionisable pendant, différent des groupements hydrophobes

(GH), lesdits groupements non ionisables étant identiques ou différents entre eux. Un tel groupement non ionisable pendant peut être par exemple l'éthanolamine liée par l'azote.

Selon une autre variante de l'invention, encore d'autres unités glutamiques peuvent  
5 chacune être porteuses d'un groupement non ionisé à pH neutre, différent des groupements hydrophobes (GH), lesdits groupements non ionisés à pH neutre étant identiques ou différents entre eux. Un tel groupement non ionisé à pH neutre peut être par exemple obtenu à partir de l'histidine ou ses dérivés choisis dans le groupe comprenant les esters d'histidine, de préférence l'ester méthylque et l'ester éthylique ; l'histidinol, l'histamine,  
10 l'histidinamide, le dérivé N-monométhyle de l'histidinamide et le dérivé N,N'-diméthyle de l'histidinamide.

Le polyglutamate, porteur à la fois des groupes cationiques et des groupements hydrophobes, et également éventuellement de groupements non ioniques (non ionisables  
15 ou non ionisés à pH neutre) peut également comporter des charges négatives (toujours à pH neutre) résultant de l'ionisation des groupes pendants de l'acide polyglutamique qui n'ont pas été fonctionnalisés.

Il est du mérite de la demanderesse d'avoir mis au point une nouvelle famille de polymères  
20 à base de polyglutamate et de groupes cationiques et fonctionnalisés par une multiplicité de groupements hydrophobes et aptes à former des systèmes colloïdaux stables. La capacité de moduler la charge du polymère en fonction du taux de fonctionnalisation peut s'avérer très efficace pour :

- abaisser la viscosité du polymère pour une injection plus facile ou une mise en  
25 œuvre plus aisée lors de l'étape de formulation.
- assurer une bonne association avec des principes actifs neutres, anioniques ou cationiques.

Ainsi, les polymères de l'invention peuvent être :

- anioniques, cationiques, neutres et aptes à associer des principes actifs chargés ou  
30 pas,
- cationiques à pH modérément acide (pH = 4-5) et neutres ou faiblement chargés à pH neutre. Dans ce cas, cette dépendance au pH leur permet, après association avec le principe actif en solution à pH = 4-5, de former un dépôt en milieu physiologique.

35

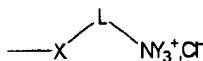
De plus, ils sont facilement dégradés, en présence d'enzymes, en catabolites/métabolites non toxiques (acides aminés).



Au sens de l'invention et dans tout le présent exposé, les termes "association" ou "associer" employés pour qualifier les relations entre un ou plusieurs principes actifs et les polyglutamates modifiés, signifient, en particulier, que le ou les principes actifs sont liés au(x) polyglutamate(s) notamment par une interaction hydrophobe, et/ou sont encapsulés par le ou les polyglutamates.

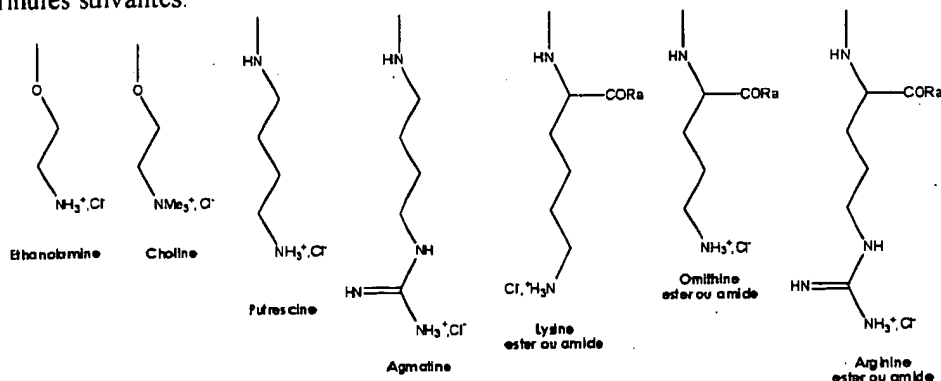
Avantageusement, les polyaminoacides selon l'invention sont, *e.g.*, des homopolymères d'alpha-L-glutamate ou d'alpha-L-glutamique.

- 10 Les groupes cationiques utilisables pour fonctionnaliser les unités glutamates sont identiques ou différents entre eux et correspondent à la formule générale suivante :



dans laquelle :

- 15 X = O, NH  
 Y = indépendamment un H ou un CH<sub>3</sub>  
 L = un alkylène linéaire (C2 à C6) et éventuellement substitué par un groupe fonctionnel de type carboxyle ou dérivé.
- 20 Suivant une caractéristique préférée, les groupes cationiques sont obtenus à partir des composés choisis parmi le groupe comprenant: la lysine, l'ornithine, l'arginine et leurs dérivés, la choline, l'éthanolamine (liée par l'oxygène), la putrescine et l'agmatine, et ayant comme contre-anion, l'ion chlorure.
- Les dérivés de la lysine, de l'ornithine, et de l'arginine peuvent être par exemple des esters éthyliques et méthyliques, des amides, et des amides méthylées.
- 25 Ainsi, les groupes cationiques utilisables dans la présente invention peuvent présenter les formules suivantes:



dans lesquelles Ra représente un groupement hydroxy (éventuellement déprotonné), alcoxy ou alkylamino, de préférence un groupement OMe, OEt, NH<sub>2</sub>, NHCH<sub>3</sub> ou N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

- 5 Suivant une caractéristique préférée, les polyaminoacides de l'invention comportent en moyenne au moins 3 groupements hydrophobes (GH) par chaîne de polymère.

- Avantageusement, au moins l'un des groupements hydrophobes GH est inclus dans un greffon hydrophobe comprenant au moins une rotule (ou motif) d'espacement ("spacer")  
10 permettant de relier le groupement hydrophobe GH à une chaîne de polyglutamate (par exemple une chaîne principale – squelette-polyglutamate). Cette rotule peut comprendre, e.g. au moins une liaison covalente directe et/ou au moins une liaison amide et/ou au moins une liaison ester. Par exemple, la rotule peut être du type de celles appartenant au groupe comportant notamment : les unités "acide aminé" différentes de l'unité  
15 monomérique constitutive du polyglutamate, les dérivés des aminoalcools, les dérivés des polyamines (par exemple les diamines), les dérivés des polyols (par exemple les diols) et les dérivés des hydroxyacides.

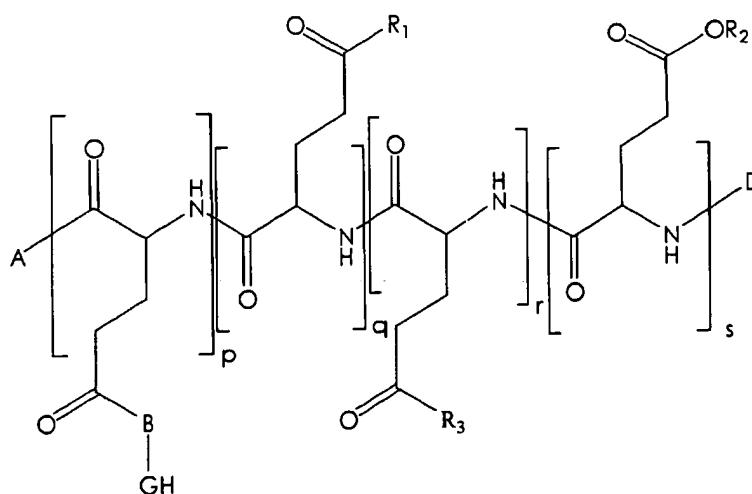
- Le greffage des GH sur la chaîne polyglutamate peut passer par la mise en œuvre de  
20 précurseurs de GH, aptes à se lier à la chaîne polyglutamate.

- Les précurseurs des GH sont, en pratique et sans que cela ne soit limitatif, choisis dans le groupe comprenant les alcools et les amines, ces composés pouvant être fonctionnalisés facilement par l'homme de l'art. Le greffage des GH est explicité plus en détails ci-après  
25 dans la description du procédé d'obtention des polyaminoacides modifiés selon l'invention.

Suivant une caractéristique préférée, le groupement hydrophobe GH du greffon hydrophobe comporte de 8 à 30 atomes de carbone.

- 30 Ces groupements hydrophobes GH sont avantageusement et judicieusement sélectionnés dans le groupe comprenant :
- les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
  - les alkylaryles ou arylalkyles en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au  
35 moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
  - et les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome.

- Les rotules formant avec les GH des greffons hydrophobes, peuvent être di-, tri- ou tétravalentes (voire pentavalentes et plus). Dans le cas d'une rotule divalente, le greffon hydrophobe comporte un seul groupement GH, tandis qu'une rotule trivalente confère au greffon hydrophobe un caractère bifide, c'est-à-dire que le greffon présente deux "pattes" GH. À titre d'exemple de rotule trivalente, on peut citer, entre autres, des unités "acide aminé", par exemple "acide glutamique" ou des restes polyols, par exemple glycérol. Ainsi, deux exemples avantageux mais non limitatifs de greffons hydrophobes comprenant des GH bifides sont les dialkyles glycérol et les dialkyles glutamate.
- 10 Les groupements hydrophobes GH peuvent être, par exemple, dérivés de groupements choisis dans le groupe comprenant :  
l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'héxadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool, le tocophérol ou le cholestérol.
- 15 Selon une autre variante, les polyglutamates selon l'invention peuvent être également porteurs d'au moins un greffon de type polyalkylène (de préférence éthylène)glycol lié à une unité glutamate.
- De préférence, le squelette du polyglutamate selon la présente invention comprend des
- 20 unités d' $\alpha$ -L-glutamate et/ou d' $\alpha$ -L-glutamique acide.
- De manière plus préférée encore, les polyglutamates selon l'invention répondent à la formule générale (I) suivante :



dans laquelle :

- 5      ■ A représente indépendamment :

  - un groupement NHR dans laquelle R représente un H, un alkyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10 ou un benzyle,
  - une unité acide aminé terminale liée par l'azote et dont la fonction(s) acide(s) est éventuellement modifiée par une amine ou un alcool répondant aux définitions NHR et OR respectivement;
- 10     ■ B est un groupement de liaison divalent, trivalent ou tétravalent, de préférence choisi parmi les radicaux suivants :  
 -O-, -NH-, -N-alkyle- (C1 à C5), un résidu d'acide aminé (de préférence naturel), un diol, un triol, une diamine, une triamine, un aminoalcool ou un hydroxyacide comportant de 1 à 6 atomes de carbone;
- 15     ■ D représente un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, ou un pyroglutamate;
- 20     ■ les groupements hydrophobes GH représentent chacun indépendamment les uns des autres un radical choisi parmi :
 
  - les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou
  - les alkylaryles ou arylalkyle en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou
  - les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de
- 25     de préférence, ce radical est choisi dans le groupe comprenant:  
 l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'héxadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool, le tocophérol ou le cholestérol, B étant une liaison directe;
- 30     ■ R<sub>1</sub> identiques ou différents entre eux représentent les groupes obtenus à partir des composés suivants :
 
  - une diamine linéaire de 2 à 6 carbones, de préférence la putrescine
  - l'agmatine,
  - l'éthanolamine liée par l'oxygène,
- 35     - la choline liée par l'oxygène,

  - un acide aminé ou dérivé dont la chaîne latérale est chargé positivement à pH neutre, *i.e.* la lysine, l'arginine, l'ornithine, leurs dérivés esters et amides, liés par la fonction amine en position alpha;

- le contre-anion du groupement  $R_1$  étant de préférence un chlorure, un sulfate, un phosphate ou un acétate;
  - $R_2$  représente un H ou une entité cationique, de préférence sélectionnée dans le groupe comprenant :
    - 5 - les cations métalliques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium ;
    - les cations organiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant :
      - 10 • les cations à base d'amine,
      - les cations à base d'oligoamine,
      - les cations à base de polyamine (la polyéthylèneimine étant particulièrement préférée),
      - les cations à base d'acide(s) aminé(s) avantageusement choisis dans la classe comprenant les cations à base de lysine ou d'arginine,
      - 15 - ou les polyaminoacides cationiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant la polylysine ou l'oligolysine;
  - $R_3$  représente les groupes obtenus à partir de l'éthanolamine liée par l'azote, un alkylène glycol, un polyalkylène glycol, l'histidine, un dérivé de l'histidine choisis dans le groupe comprenant les esters d'histidine, de préférence l'ester méthylique et l'ester éthylique ; l'histidinol, l'histamine, l'histidinamide, le dérivé N-monométhyle de l'histidinamide et le dérivé N,N'-diméthyle de l'histidinamide;
  - 20 ▪ p, q, r et s sont des entiers positifs;
  - 25 ▪  $(p)/(p+q+r+s)$  est défini comme le taux de greffage molaire des groupements hydrophobes GH et varie de 2 à 99 % molaire, et de préférence entre 5 et 50 % sous condition que chaque chaîne de copolymère possède en moyenne au moins 3 greffons hydrophobes;
  - 30 ▪  $(q)/(p+q+r+s)$  est défini comme le taux de greffage molaire des groupements cationiques et varie de 1 à 99 % molaire;
  - $(p+q+r+s)$  varie de 10 à 1000, de préférence entre 30 et 500 ;
  - $(r)/(p+q+r+s)$  varie de 0 à 98 % molaire;
  - $(s)/(p+q+r+s)$  varie de 0 à 98 % molaire.
- 35 De préférence, les groupements hydrophobes GH et les groupes cationiques sont disposés de façon aléatoire en groupements pendants.

D'une manière générale, la formule générale (I) décrite ci-dessus ne doit pas être interprétée comme représentant uniquement des copolymères séquencés (ou blocs), mais également des copolymères aléatoires ou des copolymères multiblocs.

- 5 Il est par ailleurs préférable que le taux de greffage molaire, en motif hydrophobe des polyglutamates selon l'invention, soit compris entre 2 et 99 %, et de préférence entre 5 et 50 %, sous condition que chaque chaîne de polymère possède en moyenne au moins 3 greffons hydrophobes.

- 10 Le rapport  $(q)/(p+q+r+s)$  des polyglutamates selon l'invention signifie qu'ils peuvent contenir de 1 à environ 97 % molaire de groupements contenant une charge cationique.

Le rapport  $(s)/(p+q+r+s)$  des polyglutamates selon l'invention signifie qu'ils peuvent être anioniques, neutres ou cationiques à pH neutre.

15

Selon une autre caractéristique de l'invention, les polymères selon l'invention ont une masse molaire qui se situe entre 2.000 et 200.000 g/mole, et de préférence entre 5.000 et 100 000 g/mole.

- 20 Naturellement, l'invention couvre également des mélanges de polyaminoacides modifiés tels que définis ci-dessus.

- De manière remarquable, les polyglutamates de l'invention sont susceptibles d'être utilisés de plusieurs façons selon la nature des groupements hydrophobes et des groupes cationiques, la charge et le degré de polymérisation du polyglutamate. Les méthodes de  
25 mise en forme d'un polymère pour l'encapsulation d'un principe actif sous les diverses formes visées par l'invention sont connues de l'homme de l'art. Pour plus de détails, on peut se référer, par exemple à ces quelques références particulièrement pertinentes :

- 30 "*Microspheres, Microcapsules and Liposomes ; vol 1. Preparation and chemical applications*" Ed. R. Arshady, Citus Books 1999. ISBN : 0-9532187-1-6.

"*Sustained-Release Injectable Products*" Ed. J. Senior et M. Radomsky, Interpharm Press 2000. ISBN : 1-57491-101-5.

"*Colloidal Drug Delivery Systems*" Ed. J. Kreuter, Marcel Dekker, Inc. 1994. ISBN : 0-8247-9214-9.

- 35 "*Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*" Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, Inc. 2000. ISBN : 0-8247-0369-3.

Ces polyglutamates (sous forme de particules ou non) peuvent encapsuler ou associer aisément des principes actifs tels que des protéines, peptides, ADN, ARN ou petites molécules. La mise en forme préférée est celle décrite dans le brevet US-B-6,630,171 de la demanderesse et qui consiste à disperser le copolymère dans l'eau et à incubé la solution en présence d'un principe actif (PA). Cette solution colloïdale de particules de vectorisation constituées des polyglutamates selon l'invention, peut ensuite être filtrée sous 0,2  $\mu\text{m}$  puis directement injectée à un patient.

Dans le cas où le polymère est cationique et soluble à pH acide du fait d'un excès de charge cationique et que cette charge se trouve partiellement ou totalement neutralisée à pH neutre, un tel polymère est dit dépendant du pH. Ce type de polymère peut donc être utilisé pour former un dépôt après administration, par exemple dans le tissu sous-cutané.

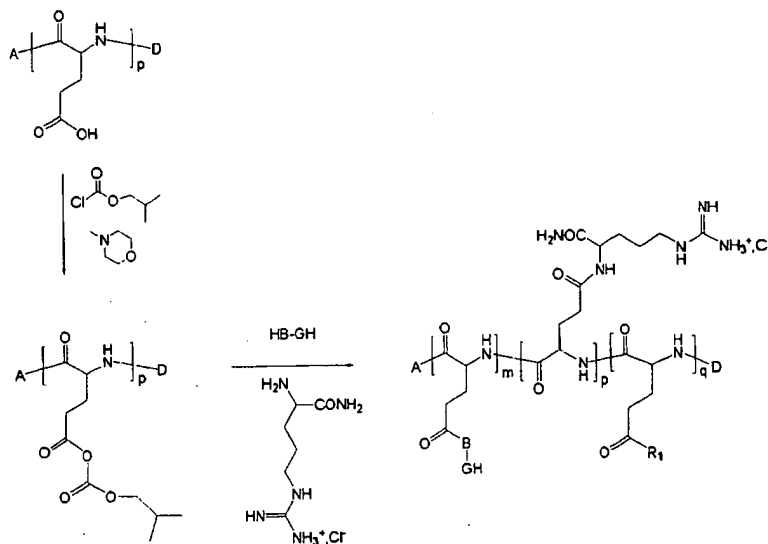
Il convient de comprendre que les fonctions résiduelles carboxyliques du polyglutamate modifié sont soit neutres (forme  $\text{COOH}$ ), soit ionisées (anion  $\text{COO}^-$ ), selon le pH et la composition. En solution aqueuse, le contre-cation peut être un cation métallique tel que le sodium, le calcium ou le magnésium, ou un cation organique tel que la triéthanolamine, la tris(hydroxyméthyl)-aminométhane ou une polyamine tel que la polyéthylèneimine.

Le contre-anion des groupements cationiques est de préférence choisi parmi le groupe comprenant un chlorure, un sulfate, un phosphate ou un acétate. Il est aussi envisageable, pour certaines structures où il y a co-existence des charges positives et négatives qu'il y ait une neutralisation totale ou partielle des charges. Un polymère ayant un nombre équivalent de charges positives et de charges négatives (point isoélectrique) peut exister sans présence ni de contre-anion ni de contre-cation.

Les copolymères de l'invention sont par exemple obtenus par des méthodes connues de l'homme de l'art. Tout d'abord, rappelons que pour l'obtention de polyaminoacide de type alpha, la technique la plus courante est basée sur la polymérisation d'anhydrides de N-carboxy-aminoacides (NCA), décrites, par exemple, dans l'article "*Biopolymers*, 1976, 15, 1869 et dans l'ouvrage de H.R. Kricheldorf "*alpha-Aminoacid-N-carboxy Anhydride and related Heterocycles*" Springer Verlag (1987). Le dérivé de NCA est de préférence NCA-Glu-O- $\text{R}_3$  ( $\text{R}_3$  = méthyle, éthyle ou benzyle). Les polymères sont ensuite hydrolysés dans des conditions appropriées pour obtenir le polymère sous sa forme acide. Ces méthodes sont inspirées de la description donnée dans le brevet FR-A-2 801 226 de la demanderesse.

Un certain nombre de polymères utilisables selon l'invention, par exemple, de type poly(alpha-L-glutamique), poly(alpha-D-glutamique), poly(alpha-D,L-glutamaté) et poly(gamma-L-glutamique) de masses variables sont disponibles commercialement.

- De préférence, on synthétise les copolymères de l'invention selon 2 voies. Dans la première, on greffe tout d'abord simultanément ou en séquence le groupe cationique (par exemple l'argininamide) et le groupement B-GH (par exemple la dodecylamine) sur un poly(acide-L-glutamique). Cette réaction peut se faire dans un solvant tel que le DMF, le
- 5 DMSO ou la NMP selon le schéma suivant.



- Dans le mécanisme ci-dessus, lorsque  $r$  n'est pas nul, le précurseur du groupe  $R_3$ , tel que l'éthanolamine liée par l'azote, est introduit au cours de la synthèse en même temps que le
- 10 groupe cationique.

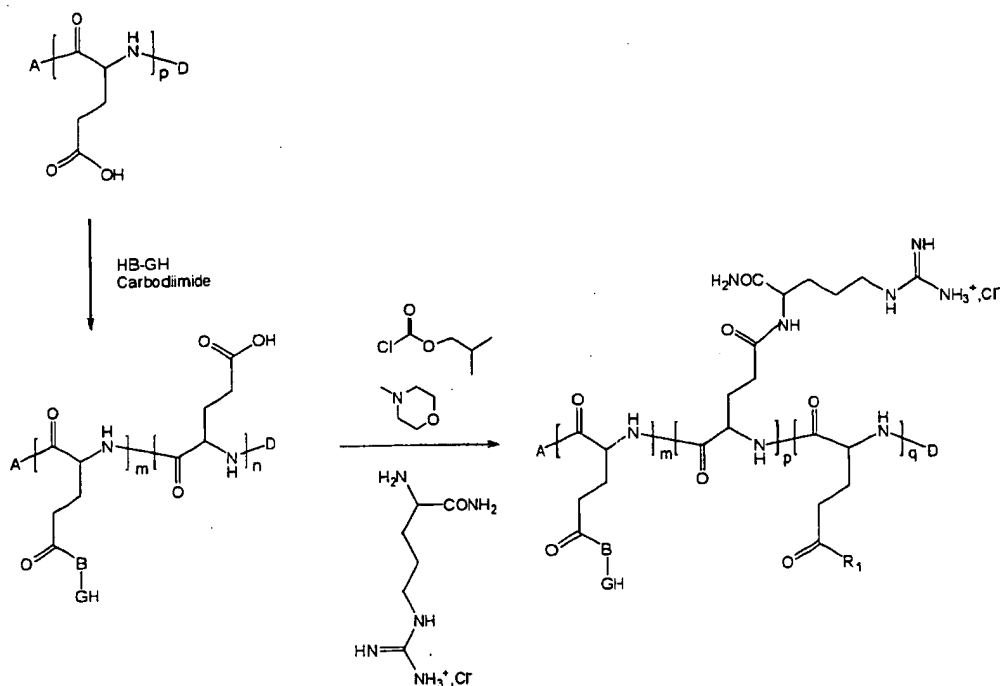
Dans le cas où le groupe cationique contient deux fonctions amines non différenciées chimiquement (*e.g.* diamine linéaire), il peut être introduit sous une forme dans laquelle une des deux fonctions est protégée. Une dernière étape de clivage du groupement protecteur est alors ajoutée au schéma ci-dessus.

15

Le poly(acide-L-glutamique) peut être synthétisé selon la voie décrite dans la demande de brevet FR-A-2 801 226. Dans le cas où le groupement HB-GH est lié via une fonction ester, il est plus aisé de greffer d'abord le groupement B-GH par une réaction de couplage classique en utilisant un carbodiimide avant de greffer le groupe cationique.

20





Dans le mécanisme ci-dessus, lorsque  $r$  n'est pas nul, le précurseur du groupe  $R_3$ , tel que l'éthanolamine liée par l'azote, est introduit au cours de la synthèse en même temps que le

5 groupe cationique.

Dans le cas où le groupe cationique contient deux fonctions amines non différenciées chimiquement (*e.g.* diamine linéaire), il peut être introduit sous une forme dans laquelle une des deux fonctions est protégée. Une dernière étape de clivage du groupement protecteur est alors ajoutée au schéma ci-dessus.

10

La chimie de polymérisation et les réactions de couplage des groupements sont classiques et bien connues de l'homme de l'art (voir par exemples les brevets ou demandes de brevet de la demanderesse cités précédemment).

15 Ces méthodes seront mieux comprises à travers la description des exemples.

Il doit être observé que le degré de polymérisation est défini par le rapport molaire de l'initiateur sur celui du monomère.

Le couplage du greffon hydrophobe GH avec une fonction acide du polymère est réalisé aisément par réaction du polyaminoacide en présence d'un carbodiimide comme agent de

20 couplage et optionnellement, un catalyseur tel que le 4-diméthylaminopyridine et dans un solvant approprié tel que le diméthylformamide (DMF), la N-méthyl pyrrolidone (NMP) ou le diméthylsulfoxyde (DMSO). Le carbodiimide est par exemple, le dicyclohexylcarbodiimide ou le diisopropylcarbodiimide. Les réactifs de couplage tels que les

chloroformates peuvent également être utilisés pour la formation de liaisons amides (voir par exemple l'ouvrage de Bodanszky « Principles of Peptide Synthesis » Springer Verlag 1984 pour des exemples d'agents de couplages). Le taux de greffage est contrôlé chimiquement par la stœchiométrie des constituants et réactifs ou le temps de réaction. Les greffons hydrophobes fonctionnalisés par un acide aminé autre que celui du polymère sont obtenus par couplage peptidique classique ou par condensation directe par catalyse acide. Ces techniques sont bien connues de l'homme de l'art.

Selon un autre de ses aspects, l'invention vise une composition pharmaceutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire comprenant au moins un polyglutamate tel que défini ci-dessus et éventuellement au moins un principe actif, qui peut être thérapeutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire.

Suivant une disposition intéressante de l'invention, le principe actif est associé au(x) polyaminoacide(s) modifiés par un groupe cationique par une ou plusieurs liaisons autre(s) qu'une (ou que des) liaison(s) chimique(s) covalente(s).

Les techniques d'association d'un ou de plusieurs PA aux polyaminoacides modifiés selon l'invention, sont décrites notamment dans le brevet US-B-6,630,171. Elles consistent à incorporer au moins un principe actif dans le milieu liquide contenant des Particules de Vectorisation (PV), de manière à obtenir une suspension colloïdale de PV chargées en ou associées avec un ou plusieurs principe(s) actif(s) PA. Cette incorporation, qui conduit à un piégeage de PA par les PV, peut être réalisée de la manière suivante :

- mise en solution aqueuse de PA, puis ajout des PV, soit sous forme de suspension colloïdale, soit sous forme de PV isolées (lyophilisat ou précipité) ;
- ou ajout de PA, soit en solution, soit à l'état pur ou préformulé, à une suspension colloïdale de particules PV, éventuellement préparée extemporanément par la dispersion de PV sèches dans un solvant approprié, tel que l'eau.

De préférence, le principe actif est choisi dans le groupe comprenant: les protéines, les glycoprotéines, les protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol [de préférence polyéthylèneglycol (PEG): "protéines-PEGylées"], les peptides, les polysaccharides, les liposaccharides, les oligonucléotides, les polynucléotides et leurs mélanges,

et, plus préférentiellement encore, dans le sous-groupe des érythroproïétines, telles que l'époétine alpha, l'époétine bêta, la darbépôétine, le raffimère d'hémoglobine, leurs analogues ou leurs dérivés; oxytocine, vasopressine, hormone adrénocorticotropique,

- facteur de croissance épidermal, facteur de croissance des plaquettes (PDGF), les facteurs stimulants de l'hématopoïèse et leurs mélanges, les facteurs sanguins, tels que alteplase, tenecteplase, facteur VII(a), facteur VII; hémoglobine, les cytochromes, les albumines prolactine, luliberine, hormone relargant l'hormone lutéinisante (LHRH) en analogues,
- 5 tels que leuprolide, goséréline, triptoréline, buseréline, nafaréline; antagonistes de la LHRH, les concurrents de la LHRH, les hormones de croissance (GH) humaine, porcine ou bovine, le facteur relargant l'hormone de croissance, l'insuline, la somatostatine, le glucagon, les interleukines ou leurs mélanges (IL-2, IL-11, IL-12), les interférons, tels que l'interféron alpha, alpha-2b, bêta, bêta-1a, ou  $\gamma$ ; la gastrine, la tétragastrine, la
- 10 pentagastrine, l'urogastrone, la sécrétine, la calcitonine, l'enkephaline, les endomorphines, les angiotensines, l'hormone relargant la thyrotropine (TRH), le facteur nécrosant des tumeurs (TNF), le facteur de croissance des nerfs (NGF), les facteurs de croissance tels que beclapérmine, trafermine, aneastim, le facteur de croissance des kératinocytes, le facteur stimulant les colonies granulocytes (G-CSF), le facteur stimulant les colonies de
- 15 macrophages granulocytaires (GM-CSF), le facteur stimulant les colonies de macrophages (M-CSF), heparinase, la protéine morphogénique de l'os (BMP), hANP, le peptide ressemblant au glucagon (GLP-1), VEG-F, l'antigène recombinant de l'hépatite B (rHBsAg), la rénine, les cytokines, la bradykinine, les bacitracines, les polymyxines, les colistines, la tyrocidine, les gramicidines, l'étanercept, l'imiglucérase, la drotrécogine
- 20 alpha, les cyclosporines et analogues synthétiques, les modifications et fragments actifs pharmaceutiquement d'enzymes, de cytokines, d'anticorps, d'antigènes et de vaccins, les anticorps tels que rituximab, infliximab, trastuzumab, adalimumab, omalizumab, tositumomab, efalizumab, et cetuximab.
- 25 Selon une variante, le principe actif est une "petite" molécule organique hydrophobe, hydrophile ou amphiphile. Au sens du présent exposé, une "petite" molécule est notamment une petite molécule non protéinique.

- Comme exemples de PA susceptibles d'être associés aux polyaminoacides selon
- 30 l'invention, qu'ils soient ou non sous forme de (nano ou micro)particules, on peut citer :
- o les protéines telles que l'insuline, les interférons, les hormones de croissance, les interleukines, l'érythropoïétine ou les cytokines ;
  - o les peptides tels que le leuprolide ou le cyclosporine ;
  - o les petites molécules telles que celles appartenant à la famille des anthracyclines, des taxoïdes ou des camptothécines ;
- 35 o et leurs mélanges.

D'une manière avantageuse, le principe actif est choisi parmi au moins l'une des familles de substances actives suivantes : les agents de traitement de l'abus d'alcool, les agents de traitement de la maladie d'Alzheimer, les anesthésiques, les agents de traitement de l'acromégalie, les analgésiques, les antiasthmatiques, les agents de traitement des allergies, les agents anticancéreux, les anti-inflammatoires, les anticoagulants et antithrombotiques, les anti-convulsivants, les antiépileptiques, les antidiabétiques, les antiémétiques, les antiglaucomes, les antihistaminiques, les anti-infectieux, les antibiotiques, les antifongiques, les antiviraux, les antiparkinsoniens, les anticholinergiques, les antitussifs, les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, les agents cardiovasculaires, les hypolipémiants, les anti-arythmiques, les vasodilatateurs, les antiangineux, les anti-hypertenseurs, les vasoprotecteurs, les inhibiteurs de cholinestérase, les agents de traitement des désordres du système nerveux central, les stimulants du système nerveux central, les contraceptifs, les promoteurs de fécondité, les inducteurs et inhibiteurs du travail utérin, les agents de traitement de la mucoviscidose, les agonistes des récepteurs de la dopamine, les agents de traitement de l'endométriose, les agents de traitement des dysfonctionnements érectiles, les agents de traitement de la fertilité, les agents de traitements des troubles gastro-intestinaux, les immunomodulateurs et les immunosuppresseurs, les agents de traitement des troubles de la mémoire, les antimigraineux, les relaxants des muscles, les analogues de nucléosides, les agents de traitement de l'ostéoporose, les parasymphomimétiques, les prostaglandines, les agents psychothérapeutiques, les sédatifs, les hypnotiques et tranquillisants, les neuroleptiques, les anxiolytiques, les psychostimulants, les antidépresseurs, les agents de traitements dermatologiques, les stéroïdes et les hormones, les amphétamines, les anorexiques, les anti-douleurs non analgésiques, les anti-épileptiques, les barbituriques, les benzodiazépines, les hypnotiques, les laxatifs, les psychotropes et toutes les associations de ces produits.

Selon un mode de réalisation, la composition de l'invention est sous forme d'un gel, d'une solution, d'une suspension, d'une émulsion, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, d'un implant, d'une poudre, d'une suspension ou d'un film.

Suivant l'une de ses formes particulièrement préférées, la composition, chargée ou non en principe actif(s), est une suspension colloïdale stable de nanoparticules et/ou de microparticules et/ou de micelles polyaminoacides, dans une phase aqueuse ou huileuse.

Des microparticules peuvent être obtenues par diverses méthodes telles que la coacervation en présence d'un agent d'agrégation (ions divalents ou trivalents ou

polyélectrolytes), précipitation par changement de pH ou de la force ionique, extraction/évaporation ou par atomisation.

En particulier, la composition selon l'invention peut être une solution colloïdale de nanoparticules dans une phase aqueuse à pH acide et qui précipite à pH physiologique.

Avantageusement, un polyaminoacide de l'invention présentant un excès de charge cationiques peut condenser un principe actif anionique tel que l'ADN, un fragment d'ADN, un ARN ou un oligo ARN sous forme de nano- ou -microparticules et ces particules peuvent être internalisées dans une cellule.

Selon un autre mode de réalisation, la composition de l'invention est sous forme de solution dans un solvant biocompatible et peut être injectée par voie sous-cutanée, intramusculaire ou dans une tumeur.

La composition selon l'invention, dès lors qu'elle est pharmaceutique, peut être administrée par voie orale, pulmonaire, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

Il est également envisageable que la composition soit sous forme de solution dans un solvant ou un mélange de solvants biocompatibles, susceptible d'être injectée en sous-cutané, intramusculaire ou dans une tumeur.

Selon un autre mode de réalisation, la composition peut éventuellement contenir un excipient pour l'ajustement du pH et/ou de l'osmolarité et/ou pour améliorer la stabilité (anti-oxydants) et/ou comme agent anti-microbiens. Ces excipients sont bien connus de l'homme de l'art (se référer à l'ouvrage : *Injectable Drug Development*, P.K. Gupta et al. Interpharm Press, Denver, Colorado 1999).

L'invention vise aussi un procédé de préparation

- de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol {par exemple PolyEthylèneGlycol (PEG), on parle alors de protéines "PEGylées"}, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides,

des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ;

- et/ou des nutriments ;
- et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires;

- 5 ce procédé étant caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement à mettre en œuvre au moins l'un des polyaminoacides tels que définis ci-dessus et/ou la composition décrite ci-dessus.

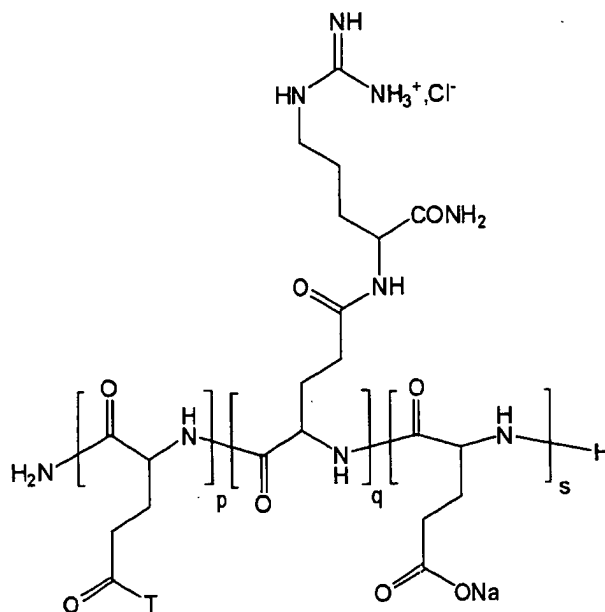
- 10 L'invention concerne également une méthode de traitement thérapeutique consistant essentiellement à administrer la composition telle que décrite dans le présent exposé, par voie orale, pulmonaire, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

- 15 Suivant une variante particulière de l'invention, cette méthode de traitement thérapeutique consiste essentiellement à mettre en œuvre la composition telle que décrite supra sous forme de solution dans un solvant biocompatible puis à l'injecter en sous-cutané, intramusculaire ou dans une tumeur, de préférence de manière à ce qu'elle forme un dépôt sur le site d'injection.

- 20 L'invention sera mieux comprise et ses avantages et variantes de mise en œuvre ressortiront bien des exemples qui suivent et qui décrivent la synthèse des polymères de l'invention, leur transformation en système de vectorisation de PA (suspension colloïdale aqueuse stable) et la démonstration de la capacité d'un tel système de s'associer à une protéine pour former des compositions pharmaceutiques.

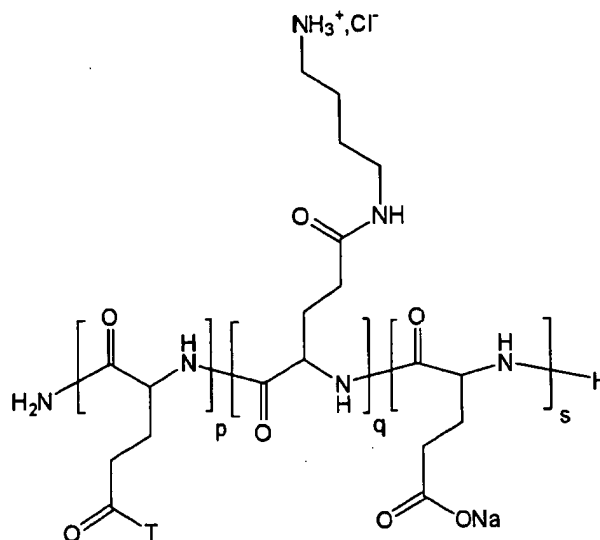
## 25 **EXEMPLES :**

### **Exemple 1 : synthèse du polymère (1)**



Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = s = 11, q = 198

- Dix grammes d'un poly(acide glutamique) de DP 220 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique sont solubilisés dans 125 mL de NMP à 80 °C. Cette solution est refroidie à 0 °C, et 8,7 mL de chloroformate d'*iso*-butyle puis 7,35 mL de N-méthyl morpholine sont ajoutés. Ce mélange réactionnel est agité 15 minutes à 0 °C. En parallèle, 24,67 g de dichlorhydrate d'argininamide sont suspendus dans 308 mL de NMP et 14,7 mL de triéthylamine sont ajoutés. La suspension obtenue est agitée quelques minutes à 20 °C puis refroidie à 0 °C. La suspension laiteuse de polymère activé est alors additionnée à cette suspension, et le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à 0 °C, puis une nuit à 20 °C. Après ajout de 2,1 mL d'une solution d'HCl 35 % puis 100 mL d'eau, le mélange réactionnel est versé goutte à goutte dans 1,6 L d'eau. La solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %) puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à un volume d'environ 250 mL. Le pourcentage d'argininamide greffée, déterminé par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, est de 90 %.

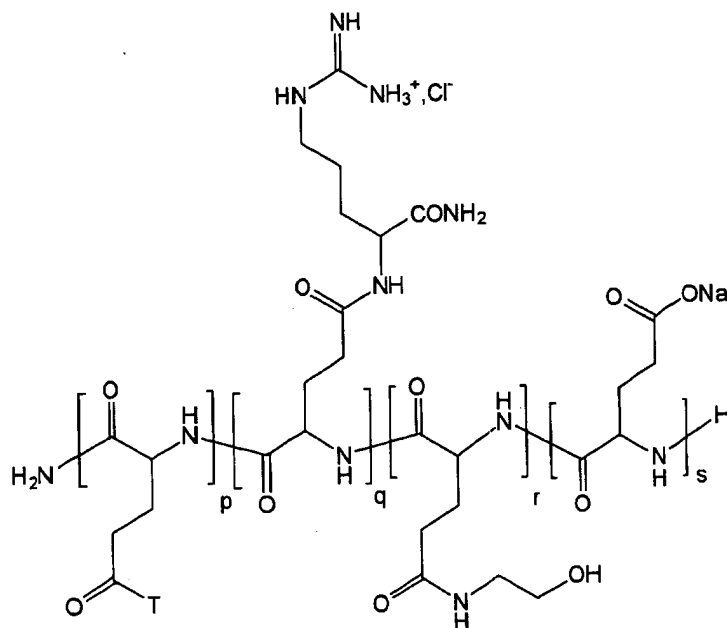
**Exemple 2 : synthèse du polymère (2)**

Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = s = 6, q = 108

- 5 Trois grammes et demi d'un poly(acide glutamique) de DP 120 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique sont solubilisés dans 70 mL de NMP à 80 °C. Cette solution est refroidie à 0 °C, et 3,2 g de chloroformiate d'*iso*-butyle puis 2,37 g de N-méthyl morpholine sont ajoutés. Ce mélange réactionnel est agité 10 minutes à 0 °C. En
- 10 parallèle, 4,62 g de N-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4-butanediamine (BOC-putrescine) sont solubilisés dans 9 mL de NMP puis refroidie à 0 °C. La suspension laiteuse de polymère activé est alors additionnée à cette solution, et le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à 0 °C, puis une nuit à 20 °C. Après ajout de 0,7 mL d'une solution d'HCl 35 %, le mélange réactionnel est versé goutte à goutte dans 317 mL d'eau. La solution obtenue est ajustée à pH = 7,4 avec de la soude 1N, puis dialysée contre de l'eau salée (0,9 %) puis de
- 15 l'eau. La suspension obtenue est lyophilisée pour donner 4,1 g d'une poudre blanche. Cette poudre est remise en solution dans le TFA, agitée 2 h à 20 °C, puis versée goutte à goutte dans un pied d'eau en ajustant le pH vers 7 avec une solution de soude 1 N. La solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %) puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à un volume d'environ 50 mL. Le pourcentage de BOC-putrescine
- 20 greffée, déterminé par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, est de 90 %.



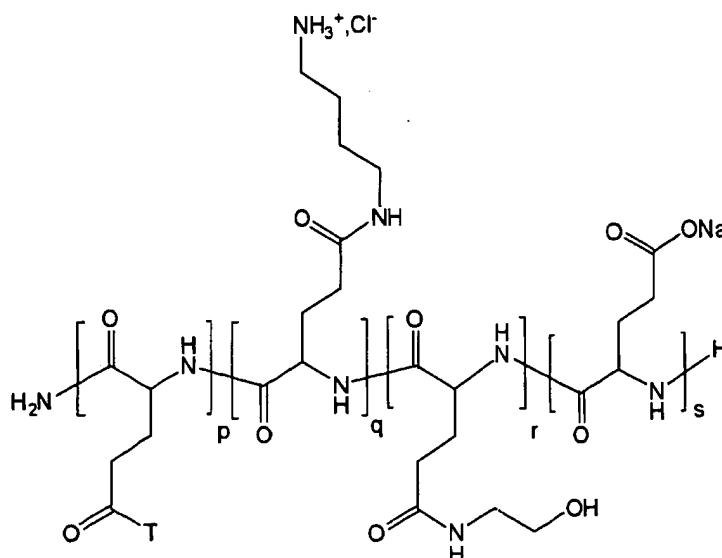
## Exemple 3 : synthèse du polymère (3)



Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 11, q = 88, r = 99, s = 22

- 5 Dix grammes d'un poly(acide glutamique) de DP 220 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique sont solubilisés dans 125 mL de NMP à 80 °C. Cette solution est refroidie à 0 °C, et 9,1 mL de chloroformate d'iso-butyle puis 7,71 mL de N-méthyl morpholine sont ajoutés. Ce mélange réactionnel est agité 15 minutes à 0 °C. En
- 10 parallèle, 8,2 g de dichlorhydrate d'argininamide sont suspendus dans 103 mL de NMP et 9,31 mL de triéthylamine sont ajoutés. On ajoute encore 1,6 mL d'éthanolamine, et la suspension obtenue est agitée quelques minutes à 20 °C puis refroidie à 0 °C. La suspension laiteuse de polymère activé est alors additionnée à cette suspension, et le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à 0 °C. On ajoute 1,2 mL d'éthanolamine, puis
- 15 agite une nuit à 20 °C. Après ajout de 2,1 mL d'une solution d'HCl 35 % puis 200 mL d'eau, le mélange réactionnel est versé goutte à goutte dans 700 mL d'eau tout en ajustant le pH vers 7,4. La solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %) puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à un volume d'environ 250 mL. Les pourcentage d'argininamide et d'éthanolamine greffées, déterminés par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, sont
- 20 respectivement de 40 et 45 %

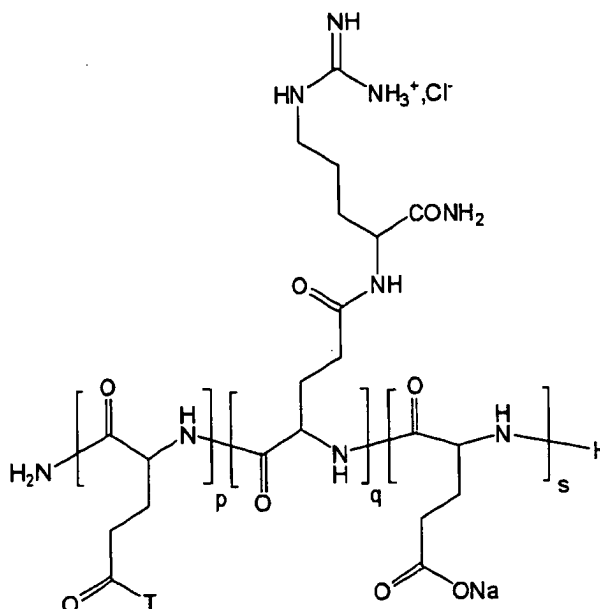
## Exemple 4 : synthèse du polymère (4)



5

Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 6, q = 59, r = 52, s = 3

- Cinq grammes d'un poly(acide glutamique) de DP 120 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique sont solubilisés dans 63 mL de NMP à 80 °C. Cette solution est refroidie à 0 °C, et 4,3 g de chloroformate d'*iso*-butyle puis 3, 7 g de N-méthyl morpholine sont ajoutés. Ce mélange réactionnel est agité 10 minutes à 0 °C. En parallèle, 3,15 g de N-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4-butanediamine (BOC-putrescine) sont solubilisés dans 39 mL de NMP puis refroidie à 0 °C. On ajoute cette solution à la suspension laiteuse de polymère activé, et le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à 15 0 °C. On ajoute 2 mL d'éthanolamine, puis agite une nuit à température ambiante. Après ajout de 1,04 mL d'une solution d'HCl 35 %, le mélange réactionnel est versé goutte à goutte dans 407 mL d'eau. La suspension obtenue est ajustée à pH = 7,4 avec de la soude 1N, puis dialysée (seuil de coupure de 1 kD) contre de l'eau salée (0,9 %) puis de l'eau. La suspension obtenue est lyophilisée pour donner une poudre blanche. Cette poudre est 20 remise en solution dans 100 mL de TFA, agitée 1 h15 à 20 °C, puis versée goutte à goutte dans un pied d'eau (500 mL) en ajustant le pH vers 7 avec une solution de soude 1 N. Après ajout de 600 mL d'éthanol, la solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %) puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à un volume d'environ 100 mL. Les pourcentages de BOC-putrescine et d'éthanolamine greffées, déterminés par RMN du 25 proton dans D<sub>2</sub>O, sont respectivement de 49 et 43 %.

**Exemple 5 : synthèse du polymère (5)**

5

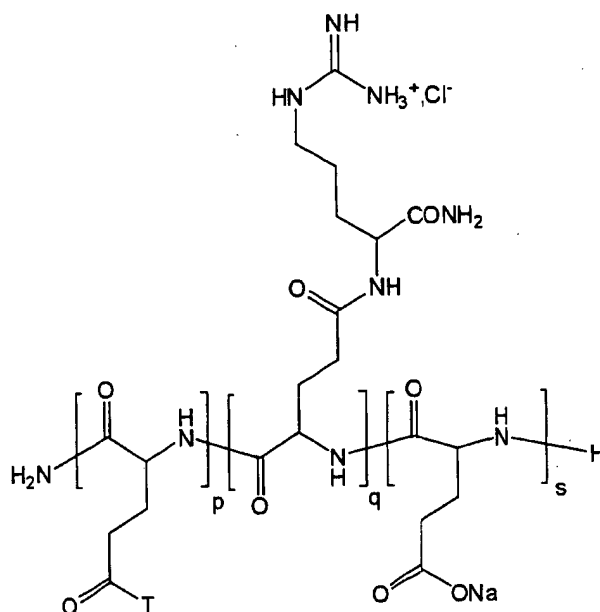
Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 5, q = 83, s = 12

Selon un mode opératoire similaire à celui utilisé pour la synthèse du polymère (1), on obtient environ 300 mL d'une solution concentrée à 48 mg/g à partir de 10 g d'un poly(acide glutamique) de DP 100 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique, de 9,6 g de chloroformiate d'*iso*-butyle, de 7,7 mL de N-méthyl morpholine, de 24,7 g de dichlorhydrate d'argininamide et de 14,7 mL de triéthylamine. Le pourcentage d'argininamide, déterminé par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, est de 83 %.

15

**Exemple 6 : synthèse du polymère (6)**

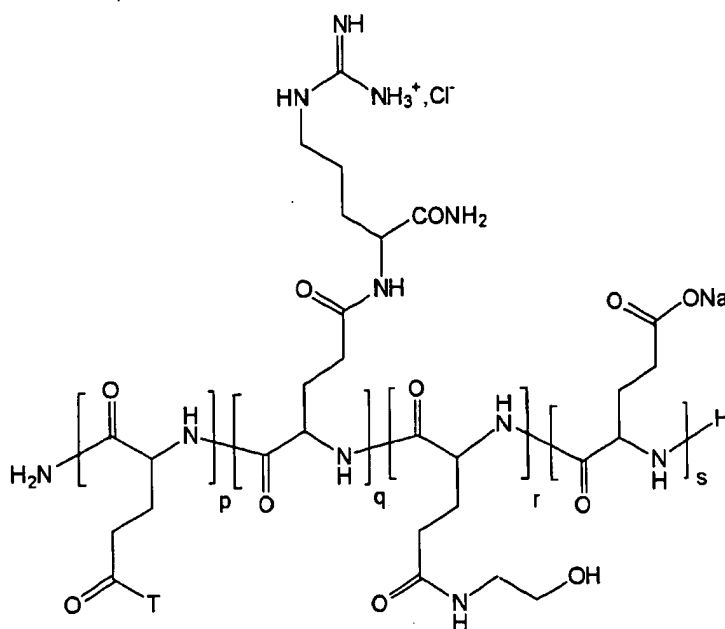
26



Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 11, q = 62, s = 147

- 5 Selon un mode opératoire similaire à celui utilisé pour la synthèse du polymère (1), on obtient environ 250 mL d'une solution concentrée à 43 mg/g à partir de 10 g d'un poly(acide glutamique) de DP 220 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique, de 2,9 g de chloroformiate d'*iso*-butyle, de 2,2 mL de N-méthyl morpholine, de 4,93 g de dichlorhydrate d'argininamide et de 3,3 mL de triéthylamine. Le pourcentage
- 10 d'argininamide, déterminé par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, est de 28 %.

#### Exemple 7 : synthèse du polymère (7)

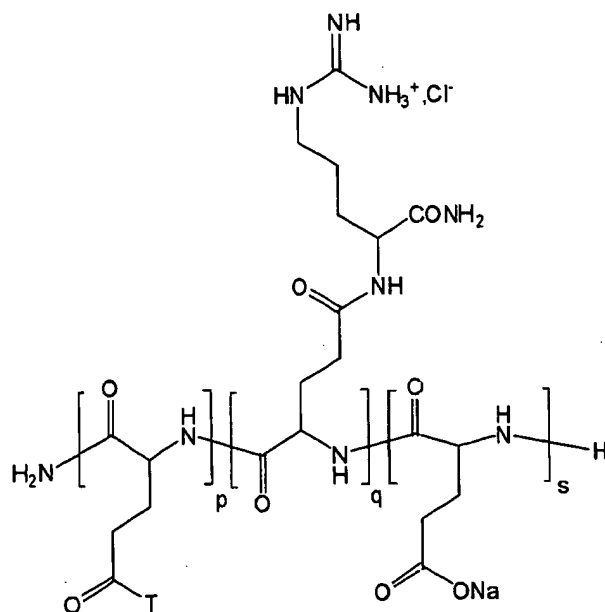


Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 5, q = 40, r = 48, s = 7

- 5 Selon un mode opératoire similaire à celui utilisé pour la synthèse du polymère (3), on obtient environ 200 mL d'une solution concentrée à 41 mg/g à partir de 10 g d'un poly(acide glutamique) de DP 100 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique, de 9,58 g de chloroformate d'*iso*-butyle, de 7,7 mL de N-méthyl morpholine, de 8,22 g de dichlorhydrate d'argininamide, de 2,86 g d'éthanolamine et de 5,1 mL de
- 10 triéthylamine. Les pourcentages d'argininamide et d'éthanolamine, déterminés par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, sont respectivement de 40 et 48 %.

#### Exemple 8 : synthèse du polymère (8)

28

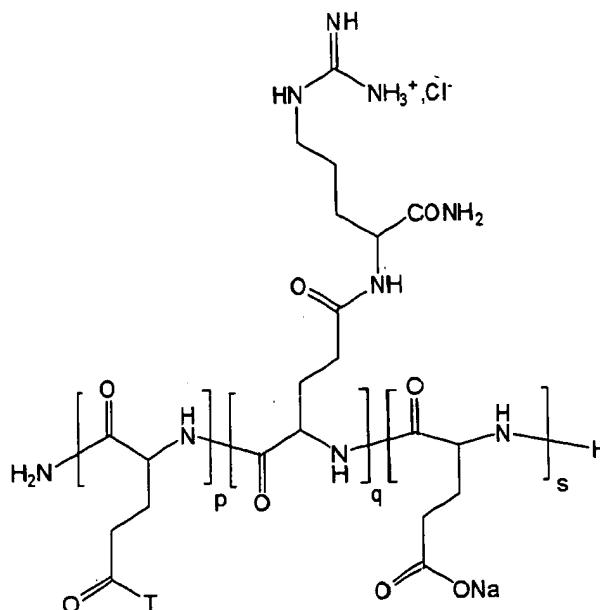


Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 11, q = 139, s = 70

- 5 Selon un mode opératoire similaire à celui utilisé pour la synthèse du polymère (1), on obtient environ 200 mL d'une solution concentrée à 51 mg/g à partir de 10 g d'un poly(acide glutamique) de DP 220 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique, de 6,39 g de chloroformiate d'*iso*-butyle, de 5,1 mL de N-méthyl morpholine, de 13,16 g de dichlorhydrate d'argininamide et de 7,5 mL de triéthylamine. Le
- 10 pourcentage d'argininamide, déterminé par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, est de 63 %.

### Exemple 9 : synthèse du polymère (9)

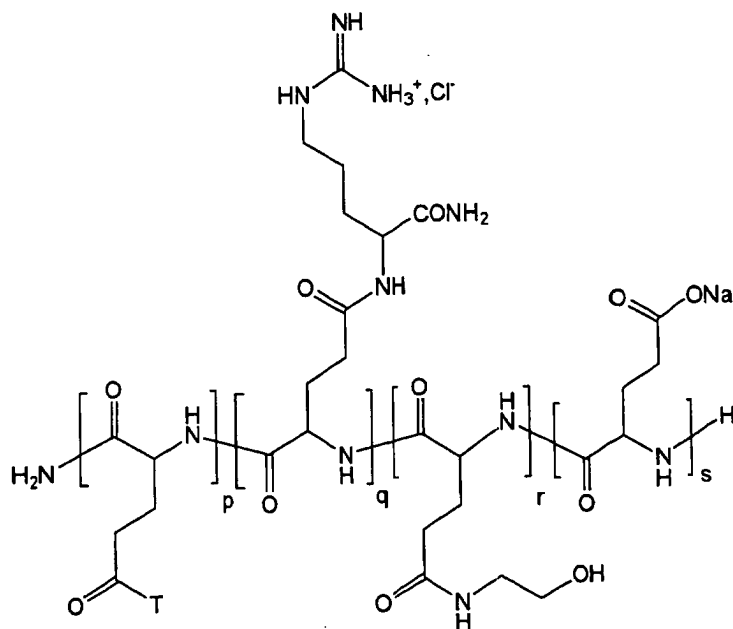
29



Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 11, q = 121, s = 88

- 5 Cinq grammes d'un poly(acide glutamique) de DP 220 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique sont solubilisés dans 63 mL de NMP à 80 °C. Cette solution est refroidie à 0 °C, et 2,38 mL de chloroformate d'*iso*-butyle puis 2,02 mL de N-méthyl morpholine sont ajoutés. Ce mélange réactionnel est agité 15 minutes à 0 °C. En parallèle, 4,93 g de dichlorhydrate d'argininamide sont suspendus dans 62 mL de NMP et
  - 10 2,8 mL de triéthylamine sont ajoutés. La suspension obtenue est agitée quelques minutes à 20 °C puis refroidie à 0 °C. La suspension laiteuse de polymère activé est alors additionnée à cette suspension, et le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à 0 °C, puis 4 h à 20 °C. Après ajout de 1,04 mL d'une solution d'HCl 35 % puis 50 mL d'eau, le mélange réactionnel est versé goutte à goutte dans 500 mL d'eau acide (pH = 3), en
  - 15 maintenant le pH vers 3-4 avec une solution d'HCl 1N. La solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %) puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à un volume d'environ 250 mL. Le pourcentage d'argininamide greffé, déterminé par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, est de 55 %.
- 20 **Exemple 10 : synthèse du polymère (10)**

30



Indices et groupements : T = D,L- $\alpha$ -tocophérol, p = 11, q = 88, r = 48, s = 73

- 5 Dix grammes d'un poly(acide glutamique) de DP 220 greffé à 5 % de façon statistique avec de l' $\alpha$ -tocophérol racémique sont solubilisés dans 125 mL de NMP à 80 °C. Cette solution est refroidie à 0 °C, et 5,6 mL de chloroformate d'*iso*-butyle puis 4,8 mL de N-méthyl morpholine sont ajoutés. Ce mélange réactionnel est agité 15 minutes à 0 °C. En parallèle, 7,4 g de dichlorhydrate d'argininamide sont suspendus dans 93 mL de NMP,
- 10 puis 4,7 mL de triéthylamine et 1,2 mL d'éthanolamine sont ajoutés. La suspension obtenue est agitée quelques minutes à 20 °C puis refroidie à 0 °C. La suspension laiteuse de polymère activé est alors additionnée à cette suspension, et le mélange réactionnel est agité pendant 2 h à 0 °C, puis une nuit à 20 °C. Après ajout de 2,07 mL d'une solution d'HCl 35 % puis 200 mL d'eau, le mélange réactionnel est versé goutte à goutte dans
- 15 670 mL d'eau acidifiée à pH = 3 avec HCl, en maintenant le pH vers 3 avec une solution d'HCl 1N. La solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %) puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à un volume d'environ 250 mL. Les pourcentages d'argininamide et d'éthanolamine greffés, déterminés par RMN du proton dans D<sub>2</sub>O, sont respectivement de 40 et 22 %.

20

**Exemple comparatif 11 : le composé C1 non fonctionnalisé par un groupe cationique**



Le composé comparatif C1 est le précurseur (sous sa forme anionique) du polyglutamate modifié par un groupe cationique, soit le polyglutamate de DP 220 greffé à 5% de façon statistique avec de la alpha-tocophérol racémique. Ce composé est obtenu par la méthode décrite dans la demande WO-A-03/104303.

5

#### Exemple 12 : Étude d'association de l'insuline

On prépare une solution aqueuse contenant 10 mg de polymère par millilitre à pH 7,4 et 200 UI d'insuline (7,4 mg). On laisse incuber les solutions pendant deux heures à température ambiante et on sépare l'insuline libre de l'insuline associée par ultrafiltration (seuil à 100 KDa, 15 minutes sous 10000G à 18 °C). L'insuline libre récupérée dans le filtrat est ensuite dosée par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) et l'on déduit la quantité d'insuline associée. Les résultats sont donnés dans le tableau 1 ci-dessous.

15

TABLEAU 1

| Polymère | % association |
|----------|---------------|
| 3        | 100 %         |
| 6        | 96 %          |
| 8        | 100 %         |
| C1       | 99%           |

Les résultats démontrent que les polymères de l'invention sont capables d'associer fortement l'insuline pour donner des suspensions colloïdales de taille supérieure à 100 KDa et les taux d'association avec l'insuline sont très élevés. En comparaison avec le polymère C1, on constate que la présence de charges cationiques ne diminue pas le taux d'insuline associé.

Exemple 13 : mesure de la viscosité (mPa/s) sous cisaillement d'une solution aqueuse à 29 mg/g avec un gradient de vitesse de  $10^{-1}$  s

25

| Exemple   | C1   | 3   | 6   | 8   | 10  |
|-----------|------|-----|-----|-----|-----|
| Viscosité | 4720 | 6,6 | 4,5 | 5,8 | 4,7 |

Les résultats démontrent que les polymères de l'invention sont nettement moins visqueux que la référence C1 qui ne contient pas de groupes cationiques pendants.

**Exemple 14 : Étude de solubilité en fonction du pH**

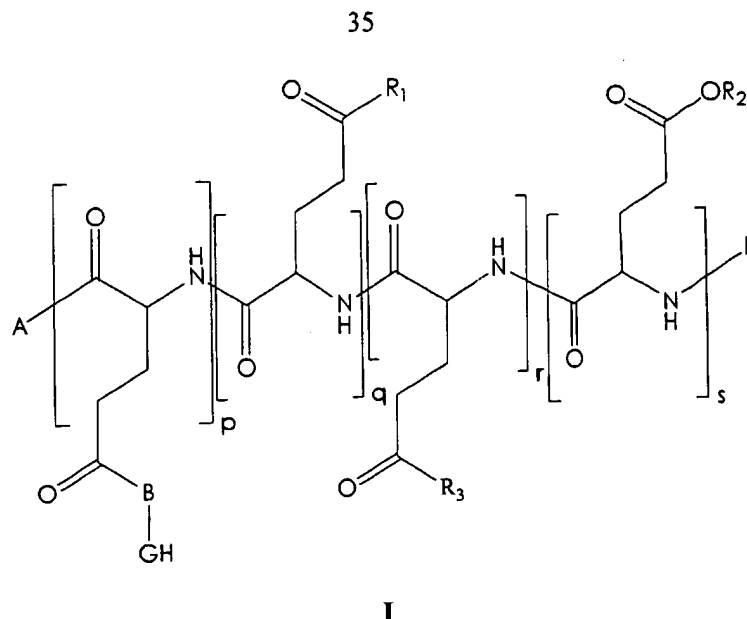
- 5 Les résultats montrent que certains polymères de l'invention (exemples 9 et 10) présentent des propriétés de solubilité dépendantes du pH qui, contrairement au composé C1, leur permettent d'être formulés avec un principe actif à pH modérément acide (pH = 4) et de former un dépôt à pH physiologique (pH autour de 7).

| Polymère | pH = 4         | pH physiologique |
|----------|----------------|------------------|
| 1        | soluble        | soluble          |
| 2        | soluble        | soluble          |
| 3        | soluble        | soluble          |
| 4        | soluble        | soluble          |
| 5        | soluble        | soluble          |
| 6        | insoluble      | soluble          |
| 7        | soluble        | soluble          |
| 8        | soluble        | soluble          |
| 9        | <b>soluble</b> | <b>insoluble</b> |
| 10       | <b>soluble</b> | <b>insoluble</b> |
| C1       | insoluble      | soluble          |

## REVENDICATIONS

- 5 1. Polyaminoacides comprenant des unités glutamiques, caractérisés en ce que certaines des unités glutamiques sont chacune porteuses d'un groupe cationique pendant, qui, s'il est déprotonable, présente un pKa supérieur ou égal à 7, lesdits groupes cationiques étant identiques ou différents entre eux, et en ce que d'autres unités glutamiques sont chacune porteuses d'un groupement hydrophobe (GH) pendant, les groupements hydrophobes (GH) étant identiques ou différents entre eux.
- 10 2. Polyaminoacides selon la revendication 1, caractérisés en ce que les groupes cationiques pendants sont greffés aux unités glutamiques par l'intermédiaire d'une liaison amide ou ester.
- 15 3. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'ils sont constitués d'homopolymères d'alpha-L-glutamate ou d'alpha-L-glutamique.
- 20 4. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que les groupes cationiques pendants sont obtenus à partir des composés choisis parmi le groupe comprenant : la lysine, l'ornithine, l'arginine et leurs dérivés, la putrescine, l'agmatine, la choline, et l'éthanolamine liée par l'oxygène.
- 25 5. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'ils comportent en moyenne au moins 3 groupements hydrophobes (GH) par chaîne de polymère.
- 30 6. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que les groupements hydrophobes (GH) sont choisis dans le groupe comprenant :
- 35
  - les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
  - les alkylaryles ou arylalkyles en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome,
  - et les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome.

- 5 7. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'au moins l'un des groupements hydrophobes (GH) est obtenu par greffage, à partir d'un précurseur choisi dans le groupe comprenant: l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'héxadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool, le tocophérol ou le cholestérol.
- 10 8. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que encore d'autres unités glutamiques sont chacune porteuses d'un groupement non ionisable pendant, différent des groupements hydrophobes (GH), lesdits groupements non ionisables étant identiques ou différents entre eux.
- 15 9. Polyaminoacides selon la revendication 8, caractérisés en ce que ledit groupement non ionisable pendant est l'éthanolamine liée par l'azote.
- 20 10. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que encore d'autres unités glutamiques sont chacune porteuses d'un groupement non ionisé à pH neutre, différent des groupements hydrophobes (GH), lesdits groupements non ionisés à pH neutre étant identiques ou différents entre eux.
- 25 11. Polyaminocacides selon la revendication 10, caractérisé en ce que ledit groupement non ionisé à pH neutre est obtenu à partir de l'histidine ou ses dérivés choisis dans le groupe comprenant les esters d'histidine, de préférence l'ester méthylique et l'ester éthylique ; l'histidinol, l'histamine, l'histidinamide, le dérivé N-monométhyle de l'histidinamide et le dérivé N,N'-diméthyle de l'histidinamide.
- 30 12. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'ils sont porteurs d'au moins un greffon de type polyalkylène (de préférence éthylène) glycol lié à une unité glutamate.
- 35 13. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule générale (I) suivante:



5

dans laquelle :

- A représente indépendamment :
  - un groupement NHR dans laquelle R représente un H, un alkyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10 ou un benzyle,
  - une unité acide aminé terminale liée par l'azote et dont la fonction(s) acide(s) est éventuellement modifiée par une amine ou un alcool répondant aux définitions NHR et OR respectivement;
- B est un groupement de liaison divalent, trivalent ou tétravalent, de préférence choisi parmi les radicaux suivants :
  - O-, -NH-, -N-alkyle- (C1 à C5), un résidu d'acide aminé (de préférence naturel), un diol, un triol, une diamine, une triamine, un aminoalcool ou un hydroxyacide comportant de 1 à 6 atomes de carbone;
- D représente un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10 ou ramifié en C3 à C10, ou un pyroglutamate;
- les groupements hydrophobes GH représentent chacun indépendamment les uns des autres un radical choisi parmi :
  - les alkyles linéaires ou ramifiés en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou
  - les alkylaryles ou arylalkyle en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S), ou

- les (poly)cycliques en C8 à C30 pouvant comporter éventuellement au moins une insaturation et/ou au moins un hétéroatome (de préférence O et/ou N et/ou S);
- $R_1$ , identiques ou différents entre eux, représentent les groupes obtenus à partir des composés suivants :
  - une diamine linéaire de 2 à 6 carbones, de préférence la putrescine,
  - l'agmatine,
  - l'éthanolamine liée par l'oxygène,
  - la choline liée par l'oxygène,
  - un acide aminé ou dérivé dont la chaîne latérale est chargé positivement à pH neutre, *i.e.* la lysine, l'arginine, l'ornithine, leurs dérivés esters et amides, lié par la fonction amine en position alpha;
    - le contre-anion du groupement  $R_1$  étant de préférence un chlorure, un sulfate, un phosphate ou un acétate;
- $R_2$  représente un H ou une entité cationique, de préférence sélectionnée dans le groupe comprenant :
  - les cations métalliques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium ;
  - les cations organiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant :
    - les cations à base d'amine,
    - les cations à base d'oligoamine,
    - les cations à base de polyamine (la polyéthylèneimine étant particulièrement préférée),
    - les cations à base d'acide(s) aminé(s) avantageusement choisis dans la classe comprenant les cations à base de lysine ou d'arginine,
  - ou les polyaminoacides cationiques avantageusement choisis dans le sous-groupe comprenant la polylysine ou l'oligolysine;
- $R_3$  représente les groupes obtenus à partir de l'éthanolamine liée par l'azote, un alkylène glycol, un polyalkylène glycol, l'histidine, un dérivé de l'histidine choisis dans le groupe comprenant les esters d'histidine, de préférence l'ester méthylique et l'ester éthylique ; l'histidinol, l'histamine, l'histidinamide, le dérivé N-monométhyle de l'histidinamide et le dérivé N,N'-diméthyle de l'histidinamide;
- p, q, r et s sont des entiers positifs;
- $(p)/(p+q+r+s)$  est défini comme le taux de greffage molaire des groupements hydrophobes GH varie de 2 à 99 % molaire, et de préférence

- entre 5 et 50 % sous condition que chaque chaîne de copolymère possède en moyenne au moins 3 greffons hydrophobes;
- $(q)/(p+q+r+s)$  est défini comme le taux de greffage molaire des groupements cationiques et varie de 1 à 99 % molaire;
  - 5    ▪  $(p+q+r+s)$  varie de 10 à 1000, de préférence entre 30 et 500 ;
  - $(r)/(p+q+r+s)$  varie de 0 à 98 % molaire;
  - $(s)/(p+q+r+s)$  varie de 0 à 98 % molaire.
- 10    14. Polyaminoacides selon la revendication 13, caractérisés en ce qu'au moins l'un des groupements hydrophobes (GH) est obtenu par greffage, à partir d'un précurseur choisi dans le groupe comprenant: l'octanol, le dodécanol, le tétradécanol, l'héxadécanol, l'octadécanol, l'oleylalcool, le tocophérol ou le cholestérol, B étant une liaison directe.
- 15    15. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que les groupements hydrophobes (GH) et les groupes cationiques sont disposés de façon aléatoire.
- 20    16. Polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que leur masse molaire se situe entre 2.000 et 200.000 g/mole, et de préférence entre 5.000 et 100.000 g/mole.
- 25    17. Composition pharmaceutique, cosmétique, diététique ou phytosanitaire comprenant au moins un polyglutamate modifié par un groupe cationique selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.
18. Composition selon la revendication 17, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un principe actif.
- 30    19. Composition selon la revendication 18, caractérisée en ce que le principe actif est associé au(x) polyglutamate(s) modifié(s) par un groupe cationique par une ou plusieurs liaisons autre(s) qu'une (ou des) liaison(s) chimique(s) covalente(s).
- 35    20. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 19, caractérisée en ce que le principe actif est choisi dans le groupe comprenant: les protéines, les glycoprotéines, les protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol [de préférence polyéthylèneglycol (PEG): "protéines-

PEGylées"], les peptides, les polysaccharides, les liposaccharides, les oligonucléotides, les polynucléotides et leurs mélanges, et, plus préférentiellement encore, dans le sous-groupe des érythropoïétines, telles que l'époétine alpha, l'époétine bêta, la darbépoétine, le raffimère d'hémoglobine, leurs analogues ou leurs dérivés; oxytocine, vasopressine, hormone adrénocorticotropique, facteur de croissance épidermal, facteur de croissance des plaquettes (PDGF), les facteurs stimulants de l'hématopoïèse et leurs mélanges, les facteurs sanguins, tels que alteplase, tenecteplase, facteur VII(a), facteur VII; hémoglobine, les cytochromes, les albumines prolactine, luliberine, hormone relargant l'hormone lutéinisante (LHRH) en analogues, tels que leuprolide, goséréline, triptoréline, buseréline, nafaréline; antagonistes de la LHRH, les concurrents de la LHRH, les hormones de croissance (GH) humaine, porcine ou bovine, le facteur relargant l'hormone de croissance, l'insuline, la somatostatine, le glucagon, les interleukines ou leurs mélanges (IL-2, IL-11, IL-12), les interférons, tels que l'interféron alpha, alpha-2b, bêta, bêta-1a, ou  $\gamma$ ; la gastrine, la tétragastrine, la pentagastrine, l'urogastrone, la sécrétine, la calcitonine, l'enkephaline, les endomorphines, les angiotensines, l'hormone relargant la thyrotropine (TRH), le facteur nécrosant des tumeurs (TNF), le facteur de croissance des nerfs (NGF), les facteurs de croissance tels que beclapérmine, trafermine, aneastim, le facteur de croissance des kératinocytes, le facteur stimulant les colonies granulocytes (G-CSF), le facteur stimulant les colonies de macrophages granulocytaires (GM-CSF), le facteur stimulant les colonies de macrophages (M-CSF), heparinase, la protéine morphogénique de l'os (BMP), hANP, le peptide ressemblant au glucagon (GLP-1), VEG-F, l'antigène recombinant de l'hépatite B (rHBsAg), la rénine, les cytokines, la bradykinine, les bacitracines, les polymixines, les colistines, la tyrocidine, les gramicidines, l'étanercept, l'imiglucérase, la drotrécogine alpha, les cyclosporines et analogues synthétiques, les modifications et fragments actifs pharmaceutiquement d'enzymes, de cytokines, d'anticorps, d'antigènes et de vaccins, les anticorps tels que rituximab, infliximab, trastuzumab, adalimumab, omalizumab, tositumomab, efalizumab, et cetuximab.

21. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 20, caractérisée en ce que le principe actif est choisi dans le groupe comprenant l'ADN, un fragment d'ADN, un ARN et un oligo ARN.



22. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 21, caractérisée en ce que le principe actif est une petite molécule organique hydrophobe, hydrophile ou amphiphile.
- 5 23. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 22, caractérisée en ce que le principe actif est choisi parmi au moins l'une des familles de substances actives suivantes : les agents de traitement de l'abus d'alcool, les agents de traitement de la maladie d'Alzheimer, les anesthésiques, les agents de traitement de l'acromégalie, les analgésiques, les antiasthmatiques, les agents de traitement des allergies, les agents anticancéreux, les anti-inflammatoires, 10 les anticoagulants et antithrombotiques, les anti-convulsivants, les antiépileptiques, les antidiabétiques, les antiémétiques, les antiglaucomes, les antihistaminiques, les anti-infectieux, les antibiotiques, les antifongiques, les antiviraux, les antiparkinsoniens, les anti-cholinergiques, les antitussifs, les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, les agents cardiovasculaires, les 15 hypolipémiants, les anti-arythmiques, les vasodilatateurs, les antiangineux, les anti-hypertenseurs, les vasoprotecteurs, les inhibiteurs de cholinestérase, les agents de traitement des désordres du système nerveux central, les stimulants du système nerveux central, les contraceptifs, les promoteurs de fécondité, les inducteurs et inhibiteurs du travail utérin, les agents de traitement de la mucoviscidose, les agonistes des récepteurs de la dopamine, les agents de traitement de l'endométriose, les agents de traitement des dysfonctionnements érectiles, les agents de traitement de la fertilité, les agents de traitements des troubles gastro-intestinaux, les immunomodulateurs et les 20 immunosuppresseurs, les agents de traitement des troubles de la mémoire, les antimigraineux, les relaxants des muscles, les analogues de nucléosides, les agents de traitement de l'ostéoporose, les parasymphomimétiques, les prostaglandines, les agents psychothérapeutiques, les sédatifs, les hypnotiques et tranquillisants, les neuroleptiques, les anxiolytiques, les psychostimulants, 30 les antidépresseurs, les agents de traitements dermatologiques, les stéroïdes et les hormones, les amphétamines, les anorexiques, les anti-douleurs non analgésiques, les anti-épileptiques, les barbituriques, les benzodiazépines, les hypnotiques, les laxatifs, les psychotropes et toutes les associations de ces produits.
- 35 24. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 23, caractérisée en ce qu'elle peut être administrée par voie orale, pulmonaire, parentérale, nasale,

vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale, intracérébrale ou buccale.

- 5      25. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 24, caractérisée en ce qu'elle est sous forme d'un gel, d'une solution, d'une émulsion, de micelles, de nanoparticules, de microparticules, d'une poudre, d'une suspension ou d'un film.
- 10     26. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 25, caractérisée en ce qu'elle est une suspension colloïdale de nanoparticules et/ou de microparticules et/ou de micelles de polyglutamate modifié par un groupe cationique, dans une phase aqueuse ou huileuse.
- 15     27. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 26, caractérisée en ce que la suspension est une solution colloïdale de nanoparticules dans une phase aqueuse à pH acide et qui précipite à pH physiologique.
- 20     28. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 27, caractérisée en ce qu'elle est sous forme de solution dans un solvant biocompatible et en ce qu'elle peut être injectée par voie sous-cutanée, intramusculaire ou dans une tumeur.
- 25     29. Composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 28, caractérisée en ce qu'elle comprend des polyaminoacides selon la revendication 13.
- 30     30. Procédé de préparation de médicaments, en particulier pour administration orale, nasale, pulmonaire, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intrapéritonéale ou intracérébrale, les principes actifs de ces médicaments pouvant être, notamment, des protéines, des glycoprotéines, des protéines liées à une ou plusieurs chaînes polyalkylèneglycol, des peptides, des polysaccharides, des liposaccharides, des oligonucléotides, des polynucléotides et des petites molécules organiques hydrophobes, hydrophiles ou amphiphiles ; et/ou des nutriments ; et/ou de produits cosmétiques ou phytosanitaires ; caractérisé en ce qu'il consiste
  - 35            essentiellement à mettre en œuvre au moins l'un des polyaminoacides selon l'une quelconque des revendications 1 à 16 et/ou la composition selon l'une quelconque des revendications 17 à 29.



INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

# RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
national

FA 692111  
FR 0703185

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS   |  | Revendication(s)<br>concernée(s)   | Classement attribué<br>à l'invention par l'INPI  |
|---|--|--|--|
| Catégorie   | Citation du document avec indication, en cas de besoin,<br>des parties pertinentes   |  |  |
| E   | WO 2007/051923 A (FLAMEL TECH SA [FR];<br>SOULA OLIVIER [FR]; SOULA REMI [FR];<br>BREYNE OLIVI) 10 mai 2007 (2007-05-10)<br>* page 5, ligne 1 - page 14, ligne 7;<br>exemples 1-8 *    | 1-30   | C08G69/10<br>C08G69/48<br>A61K8/88<br>A61K47/42<br>A61K38/28<br>A01N25/10<br>A01P13/00<br>A01P7/04<br>A01P3/00<br>A23L1/30 |
| D,X   | FR 2 840 614 A (FLAMEL TECH SA [FR])<br>12 décembre 2003 (2003-12-12)<br>* page 1, ligne 4-27 *<br>* page 5, ligne 18 - page 8, ligne 7 *<br>* page 11, ligne 13 - page 13, ligne 16 * | 1-30   |  |
| D,X   | FR 2 843 117 A (FLAMEL TECH SA [FR])<br>6 février 2004 (2004-02-06)<br>* page 1, ligne 5-28 *<br>* page 4, ligne 18 - page 7, ligne 32 *<br>* page 10, ligne 29 - page 12, ligne 31 *  | 1-30   |  |
|   |  |  | DOMAINES TECHNIQUES<br>RECHERCHÉS (IPC)  |
|   |  |  | C08G   |
| Date d'achèvement de la recherche   |  | Examineur  |  |
| 17 décembre 2007  |  | Gerber, Myriam   |  |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS   |  |  |  |
| X : particulièrement pertinent à lui seul<br>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un<br>autre document de la même catégorie<br>A : arrière-plan technologique<br>O : divulgation non-écrite<br>P : document intermédiaire |  | T : théorie ou principe à la base de l'invention<br>E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure<br>à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date<br>de dépôt ou qu'à une date postérieure.<br>D : cité dans la demande<br>L : cité pour d'autres raisons<br>.....<br>& : membre de la même famille, document correspondant |  |

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0703185 FA 692111**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.  
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 17-12-2007  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s) | Date de<br>publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| WO 2007051923 A                                 | 10-05-2007             | FR 2892725 A1                           | 04-05-2007             |
| FR 2840614 A                                    | 12-12-2003             | AU 2003274758 A1                        | 22-12-2003             |
|   |                        | BR 0311831 A                            | 29-03-2005             |
|   |                        | CA 2486944 A1                           | 18-12-2003             |
|   |                        | CN 1659214 A                            | 24-08-2005             |
|   |                        | EP 1511790 A1                           | 09-03-2005             |
|   |                        | WO 03104303 A1                          | 18-12-2003             |
|   |                        | JP 2005531652 T                         | 20-10-2005             |
|   |                        | MX PA04012300 A                         | 26-08-2005             |
|   |                        | US 2006099264 A1                        | 11-05-2006             |
|   |                        | ZA 200409892 A                          | 26-07-2006             |
| FR 2843117 A                                    | 06-02-2004             | AU 2003273466 A1                        | 23-02-2004             |
|   |                        | CA 2493337 A1                           | 12-02-2004             |
|   |                        | EP 1525246 A2                           | 27-04-2005             |
|   |                        | WO 2004013206 A2                        | 12-02-2004             |
|   |                        | JP 2006503124 T                         | 26-01-2006             |
|   |                        | US 2007160568 A1                        | 12-07-2007             |